



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código
MC-056 – Setor: Virologia/Desenvolvimento de estratégias para
prevenção e controle de viroses emergentes e reemergentes de
importância em saúde humana – Departamento de Virologia –
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes – CCS – UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 509101

REPLICAÇÃO DE VIRUS COM GENOMA DNA

A liossintese viral é uma estratégia importante para que o vírus possa se multiplicar e conseguir infectar novas células e hospedeiras. Nesta forma, para que o vírus possa se replicar e infectar novas células, ele deve passar pelas etapas de: adsorção (ligação dos vírus à receptores e co-receptores celulares, dependendo do vírus); penetração (entrada do vírus dentro da sua célula alvo); descapidação (liberação do seu código genético na célula); replicação (multiplicação do seu código genético); maturação (formação de proteínas estruturais e de partícula viral) e liberação (saída do vírus de dentro da célula).

Em relação ao código genético viral e suas estratégias de replicação, os vírus podem ser divididos em: DNA fita dupla (DNAfd; HSV-1); DNA fita simples (DNAfs; Parvovírus B19); DNA fita dupla com intermediários RNA (DNAfd com intermediários de RNA; Hepatite B); RNA fita simples de polaridade negativa (RNAfs-; vírus da Raiva); RNA fita simples de polaridade positiva (RNAfs+; Hepatite A); RNA fita dupla (RNAfd; Rotavírus); RNA fita dupla com intermediários DNA (RNAfd com intermediários DNA; HIV). Vamos agora falar sobre a replicação dos vírus de DNA.

Replicação dos vírus DNAfd

Os vírus de DNAfd têm sua replicação regida o dogma central da biologia molecular, em que o DNAfd é transcrito em RNA mensageiro (RNA m) e

S

2

este é traduzido em proteínas.

Em geral, esses vírus tem seu DNA indo ao núcleo (Cebamavídeos e Herpesvírus), mas em algumas famílias, seu DNA é encontrado no citoplasma (Chikungúnia, Rubéola e Poxvírus). Os vírus que se replicam no núcleo utilizam a RNA polimerase II (RNA pol II) celular, já os vírus que se replicam no citoplasma, utilizam a transcriptase viral.

~~Então, a replicação~~ com a replicação ocorre com a expressão dos genes iniciais que produzem proteínas que vão preparar a replicação do DNA, produzir genes intermediários e iniciar a expressão. Os genes intermediários vão produzir proteínas, estas se acumulam e iniciam a expressão de proteínas estruturais de genes tardios. Ocorre então a formação de novos filamentos de DNA pela DNA polimerase (DNA pol) e empacotamento do DNA e liberação de células.

Replicação dos vírus DNA fs

Dentre os vírus de DNA fs, temos os vírus de famílias Parvoviridae (como o Parvovirus B19). Para que esses vírus se repliquem, eles precisam que o seu DNA fs seja transcrito em um DNA complementar (DNA c).

1) DNA c, ao ser transcrito, fica ligado ao DNA parental viral, formando uma estrutura de garçom (hairpin). Essa estrutura é cortada na região 3' do DNA c pela proteína NS1. Posteriormente, os dois filamentos são transcritos em RNA m, dando à produção de genes iniciais, que preparam a expressão de proteínas estruturais (como a VP1 e VP2) dos genes tardios. Essas proteínas, junto ao DNA transcrito por uma DNA pol formam o particulado viral e são liberados.

Replicação dos vírus DNA fs com intermediários RNA

Os vírus da família Hepadnaviridae (Hepatite B) possuem um DNA fs duplo incompleto então vão ao núcleo virando um círculo covalentemente fechado (CCC).

1) CCC então se liga à histonas de forma episomal. Quando o vírus se replica, ele produz 4 proteínas. Essas proteínas fazem a formação de RNA m que formará diferentes proteínas. ~~é produzido~~ ~~RNA pol II celular~~.

Essas proteínas e as proteínas virais expressas se acumulam no citoplasma e a RNA pol II celular produz o RNA pré-genômico. O acúmulo de proteínas e RNA pré-gen-

③

mico na citoplasma, inicia a ação de transcriptase viral, levando à produção do DNA incompleto do vírus. O DNA viral então encapsula e libera.

ANTIVIRAIS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA

Os antivirais são moléculas que atuam inibindo o ciclo viral, desta forma inibindo a infecção viral. Os antivirais podem atuar: ~~tanto na célula do hospedeiro quanto no vírus~~ (1) célula do hospedeiro que os vírus estão infectando (opção que pode levar à morte celular, sendo por isso mais tóxicos); (2) no biofilme viral, inibindo a continuação de biofilme viral, desta forma um antiviral pode atuar na: adsorção, fixação à receptores e/ou co-receptores virais (caso de esfusitide que inibe o furto viral); penetração; despiração (como caso de amantadina e rimantadina inibindo a liberação do endossoma); ~~transcrição~~; replicação (caso do aciclovir que para a formação de fita de DNA novo); maturação; e liberação (caso do Oseltamivir e Zanamivir que são análogos de ácido xálicos e inibem a liberação do vírus através de membrana celular).

Os antivirais podem não conseguir inibir a infecção viral eficientemente, pois os vírus podem sofrer mutações que dificultam a ação do antiviral em inibir o biofilme viral. Em geral, os mecanismos de resistência ocorrem em: mutações em proteínas virais alvo dos antivirais; ~~em~~ proteínas virais que deixam de reconhecer os antivirais; diminuição da expressão de proteínas alvo aos antivirais; não produção de proteínas alvo aos antivirais.

Seguem abaixo alguns antivirais e mecanismos de resistência.

Antivirais anti-influenza

→ Amantadina e Rimantadina

Esses antivirais atuam no canal M2 do vírus Influenza. O M2 acidifica o ~~ambiente~~ vírus, levando à sua liberação na célula. A amantadina e rimantadina se ligam ao M2 inibindo a liberação do vírus na célula. Mutações no M2 levam à impossibilidade de ligação do antiviral ao M2 e, assim, o vírus é liberado do endossoma.

→ Oseltamivir e Zanamivir

Pensa que o Influenza pode ser liberado da célula a neuraminidase viral

✍

4

deve ~~alter~~ alterar as moléculas de ácido ribóico. Esses antirretrovirais ~~se~~ se ligam a neuraminidase, impedindo a neuraminidase de alterar as moléculas de ácido ribóico das membranas celulares, o que leva ao acúmulo de partículas virais ~~no~~ na membrana celular e a impossibilidade de vírus ser liberado da célula.

A resistência ocorre por mutações no sítio ~~onde~~ de neuraminidase ao qual esses antirretrovirais se ligam, o que possibilita a ligação de neuraminidase às moléculas de ácido ribóico.

Antirretrovirais anti-hepatite

→ ~~Proteína~~ Inibidores de protease (NS3/4)

Moléculas que inibem a protease do vírus de Hepatite C, como o Boceprevir. Esses ~~antirretrovirais~~ moléculas se ligam à protease, inibindo a clivagem e produção de proteínas necessárias à replicação viral. Podem ocorrer mutações na protease, no sítio onde os antirretrovirais se ligam, inibindo a ação dos antirretrovirais, ~~isto~~ levando à que clivagem de poliproteína viral.

→ Análogos nucleosídicos

Antirretrovirais que são análogos nucleosídicos que inibem a ação de transcriptase reversa do vírus de Hepatite B (como os antirretrovirais Entecavir e Baricitinib). Mutações na transcriptase reversa ~~levam~~ à continuação de transcrição mesmo com o antirretroviral, o antirretroviral atua inibindo o sítio de fita à partir de ~~transcrição~~ transcrição reversa, o que não ocorre após progressão com mutação na transcriptase reversa.

Antirretrovirais anti-hepatite

Antirretrovirais anti-hepatite

Os antirretrovirais anti-hepatite são basicamente análogos nucleosídicos ou inibidores de DNA polimerase.

→ Análogos nucleosídicos

O mais importante análogo nucleosídico é o aciclovir, mas por conta da possibilidade de resistência, outros antirretrovirais podem ser utilizados, como o ganciclovir e o valaciclovir.

✶

O aciclovir é um análogo de guanosina que, ao entrar na célula é fof-

5

reilado pela timidina quinase viral. Posteriormente, ele ~~é~~ ^é ~~trifosforilado~~ ^{trifosforilado} re torna trifosforilado pela timidina quinase celular. Ao ser trifosforilado, ele entra na fita de DNA nascente e quando a DNA polimerase encontra o antissinal, ele não o reconhece e a formação de novas fitas é parada.

A resistência ocorre por mutações na timidina quinase ^{viral} que não reconhece o antissinal, diminuindo a produção de timidina quinase viral ou até a produção da timidina quinase viral.

→ Inibidores de DNA pol

Quando ocorre resistência aos acidovir, podem ser utilizados inibidores de DNA pol, como o foscarnet. Esse antissinal se liga à DNA pol, inibindo a formação de cadeia de DNA nascente. Também ocorre resistência com diminuição de possibilidade de ligação do antissinal à DNA pol.

Antivirais anti-retrovirais

→ Inibidores nucleosídicos de transcriptase reversa (NRTI's)

Podem ser citados como NRTI's a Zidovudina (AZT) e o Efavirenz (EFV). Esses formam os análogos nucleosídicos que são incorporados à cadeia de DNA nascente, mas não são reconhecidos pela transcriptase reversa ~~pois as~~ ^{pois as} mutações não são reconhecidos pela transcriptase reversa, ~~sendo~~ ^{sendo} ~~assim~~ ^{assim} levando ao término de produção de fita nascente e à inibição da replicação viral. Mutações na transcriptase reversa levam à continuação da produção de fita nascente, mesmo com a presença desses antivirais.

→ Inibidores não nucleosídicos de transcriptase reversa (NNRTI's)

O efavirenz, por exemplo, é um fármaco que se liga diretamente à transcriptase reversa, inibindo a sua ação de transcrição. Mutações no sítio ativo ao qual esses antivirais se ligam na transcriptase reversa, impossibilitam a ligação desses antivirais à transcriptase reversa que consegue formar novas fitas.

→ Inibidores de integrase

São antivirais que se ligam à integrase, impossibilitando a integração do retrovírus ao DNA do hospedeiro. O Raltegravir é um desses antivirais e a resistência ocorre por mutações na integrase que dificultam sua ligação ao integrase.

Q

6

→ Inibidores de fusão

A enzima que atua no ligando é gp120 viral, que se liga à membrana celular. Mutações na gp120 impedem a ligação do antígeno, levando à resistência e entrada do vírus na célula.

→ Inibidores de Protease

Para que os retrovírus (como o HIV) possam terminar o seu ciclo, a poliproteína gag-pol deve ser clivada pela protease viral. Inibidores como o Saquinavir e o Zalcitabina se ligam ao sítio ativo da protease, onde ocorre a clivagem de gag-pol, o que impede a clivagem da poliproteína. Mutações na protease diminuem sua afinidade ao antígeno, o que leva à clivagem de gag-pol.

→ Inibidores de co-receptores

O maraviroc, impede o folding (dobramento) da proteína de adesão do HIV, impedindo sua ligação ao co-receptor celular CCR5 e sua entrada na célula. Mutações nessa proteína impedem a ligação do vírus e o vírus consegue se adotar.

Um tema importante a ser citado é que atualmente a bioinformática tem sido utilizada para analisar os mecanismos de resistência viral e sua ligação ao fito-receptor viral através de modelagem molecular e docking. Esta ferramenta pode ser utilizada para analisar as mutações que se ligam à proteína viral mutada e também analisar o reposicionamento de antígenos. Além disso, essa técnica pode ser importante para entender em que posição do sítio ativo da proteína mutada do vírus resistente ocorre a diminuição da atividade do antígeno e assim produzir antígenos análogos ou novos antígenos com menor afinidade à proteína viral.

GÊNETICA E EVOLUÇÃO DE VÍRUS EMERGENTES E REEMERGENTES

A infecção viral requer que esteja ocorrendo sempre uma disputa entre o vírus e seu hospedeiro. Para que o vírus consiga entrar e infectar o hospedeiro, ele precisa ultrapassar e escapar de diversas barreiras que o hospedeiro que impõem sua infecção, sendo a principal a resposta imune. Devido a isso, os vírus precisam ter estratégias de escape aos mecanismos de defesa do hospedeiro. Endultivamente, os vírus podem entrar em um equilíbrio com o hospedeiro, podendo ser pouco viáveis ao hospedeiro (vírus latente) ou muito viáveis ao hospedeiro (com alta taxa de replicação, levando ao óbito do hospedeiro, como é o caso do vírus Ebola).

Os vírus podem ser formados por DNA ou RNA, podendo ser fita simples, fita dupla ou segmentada. Vírus de DNA são mais estáveis do que vírus de RNA (que sofrem mais mutações). Essa estabilidade tem relação com a polimerase dos vírus, pois a DNA polimerase tem uma maior possibilidade de cometer erros e mutações quando comparada com a RNA polimerase. A taxa de mutação de DNA pol é de 10^{-10} por sítio, ou seja, ocorre a mutação de uma base a cada 10^{10} bases, enquanto a de RNA pol é de 10^{-4} . Devido a isso, os vírus de RNA têm uma maior possibilidade de ter variantes ou até que espécies do que os vírus de DNA mais estáveis.

Os mecanismos que levam à variação viral são as mutações e recombinações. Devido a isso, as mutações podem ser:

- **Pontuais** → Pequenas mutações de um ou mais nucleotídeos que, em geral, não levam a mudanças na expressão gênica e produção de proteínas.
- **Adições ou deleções** → Mutações que ocorrem em um grupo de nucleotídeos, que podem levar a mudanças na sequência do código genético e produção de proteínas diferentes.

Além dos mecanismos de recombinação, podem ser:

- **Intermolecular** → Quando 2 vírus de mesma espécie estão infectando a mesma célula e, na replicação, o gene A de um vírus é trocado pelo gene B de outro vírus.
- **Intramolecular** → Ocorre em vírus segmentados, quando 2 vírus segmentados de mesma espécie infectam a mesma célula e, na replicação, os segmentos A do vírus A e os segmentos B do vírus B se unem, criando o gene B do vírus B. Essa recombinação pode ocorrer com o **Reassortimento**.

8

~~Substância~~ Sobre a mutação, ainda é importante citar que esta pode ocorrer de forma natural (através do uso de plásmidos) ou artificial (através de produtos químicos alterações físicas, como o uso de ultravioleta).

Um caso importante de ser citadas são mutações que ocorrem com vírus como o Influenza. São elas:

- Mutações drift → Pequenas mutações que ocorrem em vírus que infectam a mesma espécie animal, mas que levam ao não reconhecimento do sistema imune.
- Mutações drift → Grandes responsáveis pela ocorrência de vírus Influenza emergentes. Ocorrem quando dois vírus que infectam espécies diferentes fazem recombinação intramolecular, dando origem a progenie viral com um novo vírus com segmentos de vírus de espécies diferentes.

Em relação à evolução viral e ao equilíbrio vírus x hospedeiro. Os vírus para que consigam se replicar, necessitam ainda competir com outros progenies virais que possam infectar a mesma célula, o vírus com melhor fita viral consegue se sub-ir e infectar outras células, já os que não conseguem são selecionados negativamente. Essa seleção ocorre pela capacidade que o vírus tem de formar progenie e escapar do sistema imune do hospedeiro.

Os vírus emergentes e reemergentes podem surgir rapidamente de surtos e epidemias, pois ao sofrerem mutações (caso do Influenza); não temem entrar em contato inicialmente com humanos, os tornando mais virulentos (Ebola); viram de outra espécie animal (caso do Sars-Cov-2); sofrem mutações, levando à produção de sub-tipos mais virulentos ou novos (caso do Dengue tipo 1). Outra questão a ser comentada é que os vírus emergentes e reemergentes são vírus de RNA com alta taxa de mutação.

Por fim, muito se discute sobre o aparecimento e evolução dos vírus, mas até o momento nenhuma hipótese definitiva é vista como a correta, apenas as hipóteses levantadas sobre a origem dos vírus, podem ser citadas:

- Hipótese vírus-plást → Essa hipótese diz que os vírus são elementos replicativos, sem origem da vida de células.
- Hipótese de compartimentação → Os vírus, na verdade eram compartimentos de uma célula ancestral que se isolou da célula.
- Hipótese da regressão → Os vírus fazem parte de uma célula que regrediu, deixando a-

para um código gráfico e sua proteção patrimonial